

POLIFENOLI I FLAVONOIDI U MEDU

Harun Kurtagić*

Federalni zavod za poljoprivredu, Butmirska cesta 40, 71000 Sarajevo, Bosna i Hercegovina

Pregledni rad

Sažetak

Biljke proizvode sve biološki aktivne sastojke hrane. Sekundarne metabolite biljaka koji su odgovorni za ljekovito djelovanje kako u samim biljkama tako i drugim organizmima mogu proizvesti samo biljke. Ljekovitost biljaka je uglavnom zasnovana na djelovanju polifenola od kojih posebno mjesto zauzimaju flavonoidi. Pčele medarice (*Apis mellifera*) putem nektara, polena i medljike donose u košnicu polifenole koji su široko distribuirani u biljnom svijetu. Iako je sadržaj polifenola u medu relativno mali oni su veoma zaslužni za njegove ljekovite osobine. Pčela ih u med ugrađuje u formi u kakvoj su ih biljke proizvele, u slobodnoj formi ili formi glikozida. Njihov broj i količina koji se mogu naći u medu varira u odnosu na čitav niz faktora kao što su kvaliteta pčelinje paše, sezona sakupljanja meda, geografsko područje i sl. Znanstveno je ustanovljeno da biljke proizvode nekoliko tisuća različitih polifenola, a da im je zajednička osobina sprječavanje nastajanja bolesti kako u samim biljkama tako u sisavcima i čovjeku. Osnovno djelovanje im se zasniva na sprječavanju nastajanja veoma reaktivnih slobodnih radikala. Kemijska struktura im je zasnovana na fenilpropanskom kosturu (C₆-C₃-C₆), a njihova biološka aktivnost na broju, poziciji i vrsti supstituenata. Većina dosadašnjih istraživanja su rađena na sadržaju ukupnih polifenola u medu i sadržaja samo manjeg broja flavonoida kao što flavonoli kvercetin i kamferol ili flavonon naringenin. Neki flavonoidi su označeni kao markeri određene sorte meda. Najveći broj ispitivanja sadržaja flavonoida je rađen u aromatičnim i ljekovitim biljkama, voću, povrću i čajevima. Zbog izuzetnog značaja ovih spojeva za živi svijet za očekivati je da će se njihova naučna istraživanja dodatno intenzivirati. Med kao poseban dar prirode oduvijek važi kao hrana i lijek, međutim njegova ljekovitost nije u potpunosti istražena, stoga je za očekivati da će se znanstvena istraživanja kvalitativnog i kvantitativnog sadržaja flavonoida u medu i drugim pčelinjim proizvodima nastaviti.

Gljučne riječi: flavonoidi, polifenoli, antikosidansi, biljke, med

Uvod

Više biljke proizvode ogromne varijacije sekundarnih metabolita čija je funkcija da zaštite biljku od različitih stresova kao što su UV zračenje, napadi patogena, i herbivora. Mnogi od ovih spojeva su pokazali širok raspon bioloških učinaka u prevenciji od raka, dijabetesa, kardiovaskularnih, neurodegenerativnih i drugih bolesti (Rasupuleti i sur., 2016; Rasoli, 2011). Biološki aktivni spojevi koncentrirani su u pojedinim biljnim organima (list, cvijet, sjeme, korijen, plod). Primarni metaboliti utječu na strukturnu funkciju same biljke, dok sekundarni metaboliti utječu na međustanično funkcioniranje biljke i reprodukciju unutar biljke, a nastaju kao odgovor na biotički i abiotički stres (Rasoli, 2011). Polifenoli su sekundarni metaboliti biljaka u kojima imaju višestruku ulogu kao što su: senzorska svojstva, boja, aroma ili ukus, utječu na otpornost biljke prema bolestima i mikroorganizmima, neki polifenoli indirektno utječu na rast biljke i štite osjetljive stanične dijelove od štetnog UV zračenja.

Polifenoli predstavljaju široko rasprostranjenu heterogenu grupu sekundarnih biljnih metabolita i jednu od najvažnijih klasa prirodnih antioksidanasa.

Generalno, pojam „flavonoid“ (latinski naziv flavus, što znači žuto) se koristi da opiše grupu prirodnih spojeva koji u svojoj strukturi imaju C₆ – C₃ – C₆ vezu, odnosno kemijski rečeno fenilbenzopiransku strukturu. U odnosu na poziciju aromatskog prstena na benzopiranski ciklus prirodni flavonoidi se dijele u tri grupe: flavonoidi (2 – benzopirani), izoflavonoidi (3 – benzopirani) i neoflavonoidi (4 – benzopirani) (Grotewald, 2006). Flavonoidi su podijeljeni na nekoliko podgrupa: halkoni, flavani, flavoni, flavonoli, izoflavoni, flavanoni, flavanonoli, i antocijani, čije su osnovne strukturne formule dane na Slici 1 (Brand, 2010). Raznovrsnost flavonoida kontroliraju geni biljke, ali i zrelost biljke, klima i način uzgoja. U prirodi se flavonoidi nalaze uglavnom u obliku glikozida, tj. povezani su s različitim molekulama šećera. Osim šećera, supstitucijske grupe koje se nalaze na osnovnoj jezgri su hidroksilna i metoksi grupa što pridonosi velikoj raznolikosti i velikom broju tih spojeva. Bogati izvori flavonoida su: voće i povrće, zeleni i crni čaj, čokolada, crna vina i bobičasto voće, međutim značajne količine se nalaze u cvijeću, čajevima, sjemenkama, medu i propolisu (Grotewald, 2006; Harborne i sur., 1999). Oksidativne procese u ljudskom organizmu

*Corresponding author: harun.kurtagic@fzpz.gov.ba

pokreću slobodni radikali koji nastaju djelovanjem UV zračenja, metabolizma, radijacije, pušenja, polutanata i životne sredine, upalnih procesa u organizmu i drugo (Tapas i sur., 2008). Loš način prehrane može biti glavni uzročnik kroničnih bolesti kao što su srčani udar i rak. Međutim, teško je kazati točno koji su to “zdravi” sastojci hrane koje bi trebalo konzumirati kako bi se imala zdravstvena korist. Ipak, s velikom sigurnošću je utvrđeno da unos adekvatnih količina voća i povrća doprinosi prevenciji od nastajanja bolesti. Veliki broj istraživanja je potvrdio da flavonoidi imaju zaštitnu ulogu zdravlja kod sisavaca posebno djelujući antikancerogeno i antiteratogeno, zaštitu DNK, lipoproteina niske gustoće (LDL), nastajanje upala, inhibiciju nastajanja trombocita, estrogeni efekt i očuvanje receptora. S aspekta prehrane međutim do danas nije s potpunom sigurnošću utvrđena potpuna uloga flavonoida unatoč mnogim istraživanjima koja su do sada urađena (Rice-Evans i Packer, 2003).

Uloga i značaj polifenola

Polifenoli uključuju više tisuća spojeva različite kemijske strukture, od jednostavnih hidroksimetilnih kiselina i antocijana (biljni pigmenti) do složenijih flavonoida i tanina s jednim ili više hidroksiliranih benzenskih prstenova u svojim strukturama. S obzirom na veliku raznovrsnost njihova klasifikacija je veoma kompleksna, uglavnom je zasnovana na kemijskoj strukturi i biosintetskom porijeklu (Herken i sur., 2009; The national Honey Board, 2007; Kazazić, 2004). Pregled strukturnih klasa fenola od prostih do najkompleksnijih dan je u Tablici 1. Flavonoidi, uključujući flavone, izoflavone i antocijanidine nastaju kondenzacijom fenilpropanoida pri čemu

prvo nastaju halkoni, a zatim dolazi do sinteze raznih strukturnih klasa. Proces sinteze flavonoida kataliziraju čitav niz biljnih enzima (Grotewold, 2006).

Ove supstance se mogu naći u slobodnom obliku ili češće u obliku glikozida ili u obliku kompleksa s drugim spojevima. Kao sastavne komponente hrane biljnog porijekla mnogi od njih do sada poznatih različitih flavonoida su dio redovne prehrane (Ferreira i sur., 2009; McKibben i sur., 2002). Flavonoidi su uključeni u fotosenzitizaciju, tranfer energije, djelovanje na hormone i regulatore rasta kod biljaka, kontrolu respiracije i fotosinteze, mofrologiju i spol biljaka (Falcone i sur., 2012). Oni su sastavni dio i ljudske i životinjske prehrane, ali se ne mogu sintetizirati u ljudima niti u životinjama (Keler, 2009). U posljednjih nekoliko godina znanstvenici su proveli opsežna istraživanja flavonoida i ustanovili njihove biološke učinke, kao što su antibakterijski, antifungalni, antivirusni, antitumorski i drugi (Tapas i sur., 2008).

Flavonoli i flavoni su od posebne važnosti jer je utvrđeno da posjeduju antioksidacijske i sposobnosti čišćenja slobodnih radikala. Flavonoidima se pripisuje svojstvo utjecaja na boju i ukus hrane (Ferreira i sur., 2009; McKibben i sur., 2002). Jedna od važnih karakteristika ovih spojeva je antioksidantna aktivnost, koja je prvenstveno rezultat njihove sposobnosti da budu donori vodikovih atoma i da kao takvi uklanjaju slobodne radikale, uz formiranje fenoksil radikala, koji je stabiliziran rezonancijom te postaje manje reaktivan (Kukrić i sur., 2013). Flavonoidi kao donori protona sprječavaju redukciju dehidroaskorbinske kiseline ili inhibiraju određene enzime i tako usporavaju proces razlaganja elastina (Gokce i Haznedaroglu, 2008).

Tablica 1. Pregled strukturnih klasa fenola

Redni broj	Broj C atoma	C - skelet	Klase biljnih fenola
1.	6	C ₆	jednostavni fenoli
2.	7	C ₆ -C ₁	hidroksibenzoati
3.	8	C ₆ -C ₂	acetofenoni i fenilacetati
4.	9	C ₆ -C ₃	hidroksicinamati, fenilpropeni,
5.	10	C ₆ -C ₄	kumarini i hromoni
6.	13	C ₆ -C ₁ -C ₆	naftokinoni
7.	14	C ₆ -C ₂ -C ₆	ksantoni
8.	15	C ₆ -C ₃ -C ₆	stilbeni i antrahinoni
9.	18	(C ₆ -C ₃) ₂	flavonoidi
10.	30	(C ₆ -C ₃ -C ₆) ₂	lignani
11.	n	(C ₆) _n	bioflavonoidi i katehol melanini
12.	n	(C ₆ -C ₃) _n	lignini
13.	n	(C ₆ -C ₃ -C ₆) _n	kondenzirani tanini

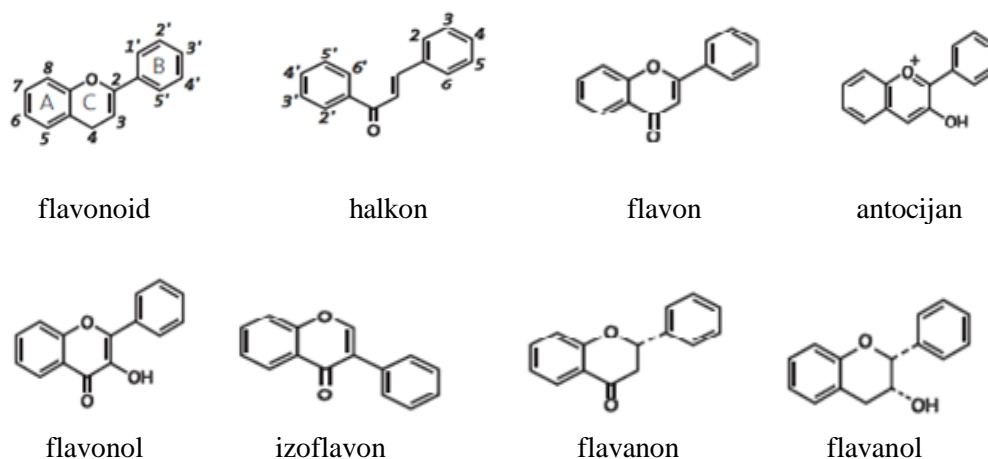
Fenolne kiseline i njihova aktivnost su već godinama predmet brojnih bioloških, kemijskih i medicinskih studija. Posjeduju snažnu antioksidativnu, antiinflamatornu, antikancerogenu i antimikrobnu aktivnost, a također su pokazale i pozitivan učinak u liječenju mnogih kardiovaskularnih bolesti i sprječavanju ateroskleroze (Hwang i sur., 2006; Mandal i sur, 2010). Za biološku aktivnost je zaslužan isključivo aglikonski dio molekula. Fenolni spojevi u biljkama nisu ravnomjerno raspoređeni na nivou tkiva, staničnoj i podstaničnoj razini. Netopljivi fenoli su sastavni dio stanične stijenke, dok se topljivi fenoli nalaze u staničnim vakuolama. Na nivou tkiva, površinski slojevi sadrže veći nivo fenola od onih koji se nalaze u njihovim središnjim dijelovima. Fenoli staničnog zida, kao što su lignini i hidroksicimetna kiselina, povezani su različitim staničnim komponentama. Ovi spojevi doprinose mehaničkoj otpornosti stanične stijenke, imaju regulatornu ulogu u rastu i morfogenezi biljke, kao i u reakciji na stres i patogene (Naczk, 2004). Akumulacija polifenolnih spojeva varira i u zavisnosti od fiziološkog stanja biljke, kao rezultat ravnoteže između biosinteze i daljeg metabolizma (Harborne, 1994). U biljkama flavonoidi vrše

redukciju reaktivnih spojeva kisika čime potpomažu redoks procese u stanicama. Međutim, flavonoidi također sudjeluju i u procesima prijenosa bola.

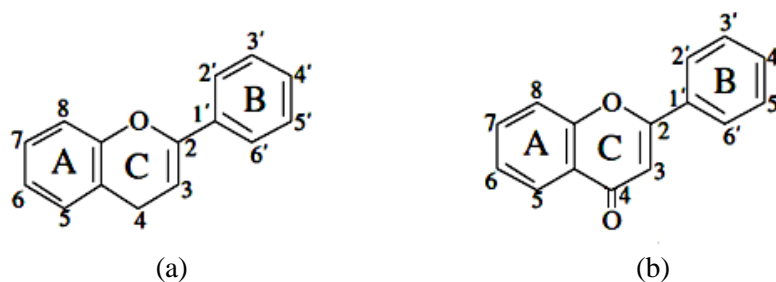
Kod biljaka vrše značajnu ulogu u procesu oplodnje kao npr., neke biljke su klijale usprkos nedostatku flavonoida, rasle i davale sjeme, međutim većini su bili potrebni flavonoidi za oplodnju i normalan razvoj polena. Utvrđeno je također da flavonoidi podešavaju transport auxina (Andersen i Markham, 2006).

Kemijska struktura

Osnovna kemijska struktura flavonoida se sastoji od 15 atoma ugljika koji su povezani u jezgru od tri fenolna prstena: A, B i C (Tapas i sur., 2008). Benzenski prsten A kondenziran je s tročlanim alifatskim nizom koji zajedno s kisikom tvori šesteročlani prsten C, a na poziciji 2 prstena C nalazi se benzenski prsten B (Slike 1 i 2). Za flavonoide koji imaju vezanu karbonilnu grupu na C-4 atomu prstena C često se koristi izraz 4-okso-flavonoidi (Slika 2b). Raznovrsnost klase flavonoida je bazirana na oksidaciji C – prstena. Samo određeni broj flavonoida daje boju biljkama zbog apsorpcije u vidljivom dijelu spektra (Davies, 2004).



Slika 1. Osnovne strukture flavonoida i osnovne kemijske strukture različitih subklasa



Slika 2. Osnovna struktura flavanoida: (a)-flavan jezgra, (b)-okso-flavonoid jezgra

S povećanjem broja hidroksilnih grupa povećava se antioksidantna aktivnost flavonoida (Marinova i Yanishlieva, 1992). Flavanoni i flavoni često se nalaze zajedno, npr. u južnom voću i povezani su sa specifičnim enzimima za razliku od flavona i flavonola koji se međusobno isključuju u mnogim biljkama.

Razlike između pojedinih flavonoidnih podgrupa proizlaze iz varijacija u broju i rasporedu hidroksilnih grupa, kao i iz prirode i stupnja njihove alkilacije i/ili glikozidacije. Najčešće se javljaju flavoni i flavonoli s hidroksilnim grupama u položajima 3'- i 4'- u prstenu B, a rjeđe oni s hidroksilnom grupom samo u položaju 4'-. Glikozidacija kod flavonoida događa se najčešće u položaju 3-, a manje u položaju 7-. Šećer koji se najčešće javlja je glukoza, no javljaju se i galaktoza, ramnoza i ksiloza. Flavonoidi koji su zastupljeni u hrani razlikuju se po položaju hidroksilnih, metoksi i glikozidnih grupa i u konjugaciji između prstena A i B. Flavonoidi u biljkama uglavnom su u obliku 3-O-glikozida ili polimera. Do polimerizacije flavanola u tanin i ostale složene spojeve dolazi npr. prilikom fermentacije enzimskom oksidacijom lišća zelenog u crni čaj. Tanini ili galotanini su esteri 3,4,5-trihidroksibenzojeve kiseline. Galoilna skupina tih tanina i monomernih katehina u zelenom čaju djelomično je odgovorna za svojstva helatiranja i hvatanja slobodnih radikala. Kondenzirani tanini ili proantocijanidini sastoje se od flavanolskih jedinica kojih može biti i do 17 u jednoj molekuli. Za ljudsku prehranu najvažniji od tih spojeva su procijanidini koji se sastoje od monomera (+)-katehina i (-)-epikatehina. (-)-Katehini i (+)-epikatehini su fitotoksični i neke ih biljke sintetiziraju u korijenu da bi spriječile naseljavanje drugih biljaka na tom teritoriju (Bais i sur., 2003). Flavonoidi daju uobičajene fenolne reakcije kao što su stvaranje intenzivno plavo-crnog kompleksa na tretman sa željezo (III) solima. Imaju izražena posebna svojstva kao što su sposobnost da talože alkaloide i proteine. Zdravstveni učinak polifenola ovisi o konzumiranoj količini i njihovoj biodostupnosti (Pichichero, 2009). Danas su u značajnoj mjeri uspostavljene metode izolacije, identifikacije i kvantifikacije polifenola i drugih fitokemikalija (Ximing i Horward, 2012).

Zastupljenost pojedinih flavonoida u prehrani

Tokom redovne prehrane unos polifenola u ljudski organizam može biti i do nekoliko stotina miligrama na dan (Manach i sur., 2005). Polifenoli su vezani za procese fotosinteze u biljkama pa su prisutni u hrani biljnog porijekla, voću, povrću, sjemenkama, cvijeću,

čaju, kavi, vinu, medu i propolisu (Lachman i sur., 2010; Grotewold, 2006). Flavonoidi su glavne obojene komponente cvjetova biljaka i obojene komponente u hrani (Keler, 2009). Brojna istraživanja potvrđuju da je koncentracija polifenolnih spojeva manja u zreloom plodu, osim kod crvenih plodova kod kojih se flavonoidi i antocijani akumuliraju na kraju sazrijevanja (Macheix i sur., 1990). U hrani se pojavljuju kao glikozidi ili esteri s drugim spojevima kao što su steroli, alkoholi, glukozidi i masne kiseline (Mandal i Chakraborty, 2010). Flavonoidi u hrani su uglavnom odgovorni za boju, okus, sprječavanje oksidacije masti i zaštitu vitamina i enzima (Yao i sur., 2004). U voću su najzastupljeniji katehini, flavonoli i proantocijanidini. Flavonoli su najobilniji flavonoidi u hrani od kojih su najzastupljeniji kvercetin, kaempferol i miricetin. Flavanoni su uglavnom nađeni u citrusnom voću, a flavoni u celeru. Katehini su prisutni u velikim količinama u zelenom i crnom čaju, i u crvenom vinu, dok se antocijanini mogu naći u jagodama i ostalom bobičastom voću. Izoflavoni se gotovo isključivo nalaze u hrani na bazi soje. Flavonske kiseline su uglavnom prisutne u cerealijama (pšenici, ječmu, raži), a posebno ferulna kiselina, esterifikovana s polisaharidima koji su sastavni dio stanične stijenke biljke (Cai i sur., 2001). U citrusima kao što su naranče i limun najzastupljeniji su flavoni i flavanoni. Citrusni flavanoni nađeni su u narančama, grejpfrutu i limunu, među kojima naringenin u najvećoj količini. U nekom voću (npr. jabuke) flavonoli su primarno zastupljeni u kori pa se guljenjem njihova količina značajno smanjuje, međutim katehini se u najvećoj količini nalaze u svježem voću. Crni grejp je voće najbogatije sa katehinima, a zatim slijede jabuke. U manje značajnim količinama katehini se nalaze u stolnom voću, a u formi estera u manjim količinama se nalaze u bobičastom voću. Najveća količina kvercetina se nalazi u bazgi i brusnici. Bobičasto voće i ribizle sadrže najveće količine keamferola i mirecitina. Ova dva flavonoida su također detektirana i drugim vrstama voća, ali u veoma malim količinama. Veće količine su nađene u svježem voću. Utvrđeno je da masline sadrže značajne količine luteolina i apigenina (Andersen i Markham, 2006). Od povrća lukovi, kupusnjače, lisnato povrće i rajčica su najveći izvori flavonoida pogotovo kvercetina i keamferola. Flavonoidi su nađeni u celeru, slatkoj paprici i salati. Rajčica je jedino povrće koje može sadržavati flavanone naringenin i hesperetin. U crvenom luku je nađena najveća količina kvercetina od 95 mg/100 g. Pića uglavnom sadrže katehine, a njihov broj, vrsta i količina zavise od sirovine od koje su napravljeni.

Flavonoli kvercetin, keampferol i mirecetin su nađeni u čajevima. Proizvodi na bazi bilja, voća i povrća sadrže značajne količine flavonoida. Med sadrži male količine flavonola i flavanone, a od flavanone nađen je naringenin. Sadržaj flavonoida u aromatičnim biljkama nije dovoljno istražen. Sadržaj apigenina u peršinu je nađen u visokom iznosu (217.9 mg/100 g), a u kadulji i majčinoj dušici nađen je luteolin (39.5 mg/100 g) (Andersen i Markham, 2006). Biodostupnost raznih klasa polifenola i flavonoida je danas predmet mnogih istraživanja i većina od njih ukazuje na njihovu relativno slabu apsorpciju što zavisi od mnogih faktora kao što su molekulske težine, stupanj glikolizacije i hidrolizacije, metabolizma organizma i sl. (Surangi i Vasantha, 2013). U nekim istraživanjima kvercetin glukozid iz luka i jabuke su pokazali najbolju biodostupnost (Hollman i sur., 1997). Pokazalo se da stupanj apsorpcije flavonoida u probavnom sustavu zavisi i od aglikonskog dijela molekule. Tako je u slučaju kvercetina utvrđeno da njegov šećerni dio molekule igra veoma važnu ulogu u apsorpciji (Surangi i Vasantha, 2013).

Flavonoidi i fenolne kiseline u medu

Glavne grupe flavonoida nađenih u medu su flavoni, flavonoli i flavononi (Lachman i sur., 2010). Osim flavonoida med sadrži i druge fenole od kojih se najviše fenolne kiseline poput galne, kumarinske, kofeinske, elaginske i ferulične te njihovi esteri (Rasupuleti, i sur., 2016). Osim estera navedenih kiselina prisutni su i neki drugi kao npr. metil-vanilat, metil-siringat i metil-4-hidroksibenzoat koji su pronađeni u različitim vrstama meda poput bagremovog, kestenovog, jelinog, narančinog, suncokretovog i meda od uljane repice (Jaganathan i sar., 2010; Herken, 2009). Flavonoidi koji se najčešće nalaze u medu su pinocembrin, apigenin, kamferol, kvercetin, galangin, krisin, pinobanksin, luteolin i hesperitin (Turkmen i sur., 2006). Prisustvo navedenih flavonoida u medu prvenstveno ovisi o botaničkom podrijetlu, pa se pojedini flavonoidi označavaju i kao markeri botaničkog porijekla meda (Lachman i sur., 2010; Kaškonien i sur., 2009). U desetine vrsta ispitivanih uzoraka meda utvrđeno je prisustvo flavonoida pinocembrina (Bogdanov, 1989). U nekim studijama, flavanon hesperetin je služio kao marker za tzv. citrusni med, flavonol kempferol za med ružmarina i kvercetin za med suncokreta. Ferreres i suradnici su HPLC analizom flavonoidnog profila 14 vrsta uniflornih i multiflornih medova odredili hesperetin kao marker za identifikaciju meda citrusa budući da je i identificiran samo u toj vrsti meda (Ferreres i sur., 1994). Isti

autori su flavonoid miricetin predložili kao marker za med vrieska te kempferol za med ružmarina (Tomas-Barberan i sur., 2001). Treba imati u vidu da se određene flavonoidne komponente koje ulaze u sastav propolisa (npr. pinobanksin, galangin, krisin, pinocembrin) ne mogu koristiti kao pokazatelji botaničkog porijekla jer njihova koncentracija u medu zavisi od kontaminacije meda propolisom (Tomas-Barberan i sur., 2001). U ispitivanjima flavonoida u medu često su identificirane i fenolne kiseline. Tako je elaginska kiselina identificirana kao mogući marker za med vrieska (*Erica* sp.), dok je za med majčine dušice karakteristična prisutnost ružmarinske kiseline (Andrade i sur., 1997). S druge strane, apscisinska kiselina, koja se smatrala mogućim markerom meda od vrieska, identificirana je i u medovima od repice, limete i bagrema. Također, moguću povezanost s botaničkim porijeklom meda pokazuju i derivati fenolnih kiselina prisutni u medu, ali to svakako treba dodatno ispitati (Tomas-Barberan i sur., 2001). Neke fenolne kiseline su označene kao markeri meda lijeske, hidroksicimene (kofeinske, p-kumarinske i ferula kiselina kao markeri kestenovog meda (Jaganathan i sur., 2010; Herken, 2009). Ispitivanja sadržaja fenolnih spojeva i flavonoida u medu su pokazala da postoji korelacija s cvjetnim i geografskim porijeklom s jedne strane i antimikrobnim djelovanjem s druge strane (Pasupuleti i sur., 2016; Bertoncelj, 2008). Količine flavonoida u medu su veoma različite, ali mogu iznositi i do 6000 µg/kg, dok je njihov udio puno veći u polenu (0,5 %) i u propolisu (10 %) (Reshma, i sur., 2016; Youngsu, i sur., 2015; Anklam, 1998). Neki znanstvenici su ispitivali ukupni udio fenola (ne uključujući flavonoide) u 27 uzoraka različitih vrsta meda. Pri tom se udio fenola u ispitanim medovima kretao između 32,59 i 114,75 mg/100 g uz prosječnu vrijednost od 74,38 mg/100 g. Također se pokazalo da medljikovci imaju veći udio fenola nego cvjetni medovi (Meda i sur., 2005). Utvrđeno je da antioksidativni kapacitet medova je u značajnoj mjeri povezan s flavonoidima, ali da svakako ukupna antioksidacijska aktivnost meda zavisi kako od ukupnog sadržaja polifenola (Reshma i sur., 2016; Youngsu i sur., 2015) tako i svih drugih antioksidanasa (Mohamed i sur., 2010). Do danas su flavonoidi analizirani različitim kromatografskim tehnikama kao što su tankoslojna (TLC), gasna (GC) i tečna (HPLC), kapilarna elektroforeza (CE), gasna kromatografija-spektrometrija masa (GCMS) i drugim (Pengpeng i sur., 2010). U današnje vrijeme HPLC - DAD je našla najveću primjenu u određivanju aktivnih sastojaka u biljkama, a samim tim i flavonoida (Pengpeng i sur., 2010; Makawi-

Alabedeen, 2009). Za flavonoide su karakteristične dvije UV apsorpcijske trake; traka 2, s maksimumom u intervalu od 240-285 nm, vjeruje se da nastaje iz (A) prstena, dok traka 1 s maksimumom u intervalu od 300-550 nm, vjerojatno nastaje iz (B) prstena. Kvantifikacija flavonoida je još jedna prednost HPLC metode sa UV detektorom. Procjena količine flavonoida u medu vrši se usporedbom rezultata kalibracija standarda flavonoida s rezultatima u uzorcima meda (Kaskoniene i Venskutonis, 2010). Neka kromatografska istraživanja su pokazala bitnu razliku u količini i vrsti flavonoida između pojedinih vrsta meda kao što su količine flavonoida kvercetina, naringenina i hesperetina (Kurtagić i sur., 2013; Čeksteryte i sur., 2006).

Zaključci

Imajući u vidu ogromnu rasprostranjenost polifenola i flavonoida u biljnom carstvu s pravom se može očekivati da se mnogi od njih mogu naći u medu. Kao što dosadašnja istraživanja pokazuju neki flavonoidi se već mogu koristiti kao markeri određenih vrsta meda, međutim jasno je da se radi samo o malom broju flavonoida. S obzirom na raznolikost uslova sakupljanja meda, pasmine pčela, sezone, meteorološke uslove i sl., može se pretpostaviti da od nekoliko tisuća flavonoida koje proizvode biljke i veliki broj vrsta pčelinjeg meda može se očekivati prisutnost polifenola i flavonoida u medu u različitim kvalitativno-kvantitativnim omjerima. Iz dostupne znanstvene literature može se zaključiti da je ova tema jako popularna na svim meridijanima svijeta međutim ni blizu nije dovoljno istražena.

Literatura

- Anderson, Ø. M., Markham, K. R. (2006): *Flavonoids, Chemistry, Biochemistry and Application*: Taylor&Frances, Boca Raton, London, New York.
- Andrade, P., Ferreres, F., Gil, M. I., Tomas-Barberan, F. A. (1997): Determination of phenolic compounds in honeys.
- Anklam, E. (1998): A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. *Food Chemistry* 63 (4), 549-562.
- Bais, H. P., Walker, T. S., Kennan, A. J., Stermitz, F. R., Vivanco, J. M. (2003): Structure-dependent phytotoxicity of catechins and other flavonoids: Flavonoid conversions by cell-free protein extracts of *Centaurea maculosa* (spotted knapweed) roots. *J Agric Food Chem.* 51, 897-901.
- Balunas, M. J., Kinghorn, A. D. (2005): Drug discovery from medicinal plants. *Life Sciences* 78, 431-441.
- Beroncelj, J. (2008): Identifikacija in vsebnost nekaterih antioksidantov v slovenskem medu, Dokt. disertacija, Ljubljana, Univ. V Ljubljana, Biotehniška fakulteta.
- Bogdanov, S. (1989): Determination of pinocembrin in honey using HPLC. *J. Apicultural Res.* 28, 55-57.
- Brand, W. (2010): Increasing hesperetin bioavailability by modulating intestinal metabolism and transport, Doctoral Thesis Wageningen University, Wageningen, The Netherlands.
- Cai, Y., Luo, Q., Mei Sun, M., Harold Corke, H. (2004): Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences* 74, 2157-2184.
- Čeksteryte, V., Kazlauskas, S., Račys, J. (2006): Composition of flavonoids in Lithuanian honey and beebread. *Biolog.* 2, 28-33.
- Davies, K. (2004): *Plant Pigments and Their Manipulation*, CRC Press, Blackwell Publishing Ltd. *Annual Plant Reviews* 14, 93-95.
- Espin, J. C., Garcia-Conesa, M. T., Tomas-Barberan, F. A. (2007): Nutraceuticals: Facts and fiction. *Phytochemistry* 68, 2986-3008.
- Rice-Evans, C. A., Packer, L. (2003): *Flavonoids in Health and Disease*. Second edition. Marcel Dekker, Inc. New York, Basel.
- Falcone, F. M., Sebastián, P. R., Casati, P. (2012): Flavonoids Biosynthesis, biological functions, and biological applications. *Frontiers in Plant Science* 3 (222), 1-15.
- Ferreira, I. C. F. R. et al. (2009): Antioxidant activity of Portuguese honey samples: Different contributors of the entire honey and phenolic extract. *Food Chemistry* 114 (4), 1438-1443.
- Ferreres, F., Giner, J. M., Tomas-Barberan, F. A. (1994): A comparative study of hesperetin and methyl anthraniline as markers of the floral origin of citrus honey. *J. Sci. Food Agric.* 65, 371-372.
- Gokce, G., Haznedaroglu, M. Z. (2008): Evaluation of antidiabetic, antioxidant and vasoprotective effects of *Posidonia oceanica* extract. *Journal of Ethnopharmacology* 115 (1,4), 122-130.
- Grotewald, E. (2006): *The Stereochemistry of Flavonoids*, Springer.
- Harborne, J. B., Baxter, H. et al. (1999): *Handbook of natural flavonoids*. Vol 2. Chichester (UK): Wiley & Sons.
- Herken, E. N., Erel, O., Guzel, S. et al. (2009): Total antioxidant, Phenolic compounds, and Total Oxidant Status of Certified and Uncertified Tutkey's Honeys. *International Journal of Food Properties* 12 (3), 461-468.
- Jaganathan, S. K., Mandal, S. M., Jana, S. K. et al. (2010): Studies on the phenolic profiling, antioxidant and cytotoxic activity of Indian honey: in vitro evaluation. *Natural Product Research* 24 (14), 1295-1306.
- Jašić, M. (2010): Uvod u biološki aktivne komponente hrane, 72 str., Tehnološki fakultet Tuzla.
- Kaskoniene, V., Venskutonis, P. R. (2010): Floral Markers in Honey of Various Botanical and Geographical Origins. *Comprehensive Review in Food Science and Food Safety* 9 (6), 620-634.

- Kazazić, S. P. (2004): Antioksidacijska i antiradikalna aktivnost flavonoida. *Arh. Hig. Rada, Toksikology* 55, 279-290.
- Keller, R. B. (2009): Flavonoidas, Byosintesis, biological effects and Dethary sources: Nova Science Publishers, Inc. New York.
- Kukrić, Z., Jašić, M., Samelak, I. (2013): Biohemija hrane – biološki aktivne komponente, Tehnološki fakultet Banja Luka.
- Kurtagić, H., Redžić, S., Memić, M. (2013): Identification and quantification of quercetin, naringenin and hesperetinby RP LC – DAD in honey samples from B&H. *Glasnik hemičara i tehnologa BiH* 40, 25-30.
- Lachman, J., Orsac, M., Hejtmankova, A. et al. (2010): Evaluation of antioxidant activity and total phenolic of selected Czech honeys. *LWT – Food Science and Technology* 43 (1), 52-58.
- Macheix, J. J., Fleuriet, A., Billot, J. (1990): Fruit Phenolics. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Makawi-Alabedeen, S. Z., Elrasheed, A. G., Saad Mohamed, H. A. (2009): Determination of Antioxidant Flavonoid in Sudanese Honey Samples by Solid Phase Extraction and High Performance Liquide Chromatography. *E-Journal of Chemistry* 6 (S1), 429-437.
- Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A., Rémésy, C. (2005): Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. *The American Journal of Chemical Nutrition* 81 (1), 2305-2425.
- Manda, S. M., Chakraborty, D., Dey, S. (2010): Phenolic acids act as signaling molecules in plantmicrobe Symbioses. *Plant Signaling & Behavior* 5 (4), 359-368.
- Marinova, E. M., Yanishlieva, N. V. (1992): Effect of temperature on the antioxidative action of inhibitors in lipid autoxidation. *J. Sci. Food Agric.* 60, 313-318.
- McKibben, J., Engeseth, N. J. (2002): Honey as a protective agent against lipid oxidation in ground turkey. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 50 (3), 529-595.
- Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, L., Nacoulma, O. G. (2005): Determination of total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chem.* 91, 571-577.
- Mohamed, M., Sirajudeen, K. N. S., Swamy, M. et al. (2010): Studies on the antioxidant properties of tualang honey of Malaysia. *African journal of traditional complementary and alternative medicines* 7 (1), 59-63
- National Honey Board (2007): Honey and therapeutic qualities. Longmont, The National Honey Board: <http://www.biologiql.nl/UserFiles/Compendium%20Honey%202002.pdf>.
- Naczka, M., Shahidi, F. (2004): Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A* 1054 (1), 95-111.
- Pasupuleti, V. R., Kumara, T. K., Naguib, S., Siew, H. G. (2016): Biological and therapeutic effects of honey produced by honey bees and stigles bees: a comparative review. *Brazilien Journal of Pharmacognosy* 26, 657-664.
- Pengpeng, Y., Jing, S., Changxian, Z., Runrong, Y. (2010): HPLC-DAD separation and determination of majoractive constituents in an important Tibetan medicine *Meconopsis quintuplinervia* from different regions of Qinghai-Tibet Plateau. *Journal of Medicinal Plants Research* 4 (11), 1053-1058.
- Pichichero, E., Canuti, L., Canini, A. (2009): Characterisation of the phenolic and flavonoid fraction and antioxidation power of Italian honeys of different botanical origin. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 89 (4), 609-616.
- Rasoli, I. (2011): Phytochemicals – Bioactives and Bioavailability and Impact of Health; Chapter 5, Yan Li, Paxton JW (ed) Oral Bioavailability and Disposition od Phytochemicals. Intech. Shanghai, Rijeka.
- Reshma, M. V., Shym,a S., George, T. M., Rishin, A. V., Ravi, K. C., Shilu, L. (2016): Study on the physicochemical parameters, phenolic profile and antioxidant properties of Indian honey samples from extrafloral sources and multifloral sources. *Internatzional Food Research Journal* 23 (5), 2021-2028.
- Surangi, H., Thilakarathna, H. P., Vasantha, R. (2013): Flavonoids Bioavailability and Attempts for Bioavailability Enhancement. *Nutrients* 5 (9), 3367-3387.
- Tandon, S. K., Chandra, S., Gupta, S., Jawahar, L. (1995): Pharmacological effects of alcoholic extract of Eucalyptus citriodora leaves. *Indian Vet. J.* 72 (7), 762-764.
- Tapas, A. R., Sakarkar, D. M., Kakde, R. B. (2008): Flavonoids as Nutraceuticals: A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 7 (3), 1089-1099.
- Tomas-Barberan, F. A., Martos, I., Ferreres, F., Radovic, B. S., Anklam, E. (2001): HPLC flavonoid profiles as markers for the botanical origin of european unifloral honeys. *J. Sci. Food Argic.* 81, 485-496.
- Turkmen, N., Sari, F., Poyrazoglu, E. S., Velioglu, Y. S. (2006): Effects of prolonged heating on antioxidant activity and colour of honey. *Food Chem.* 95, 653-657.
- Zhimin Xu, Luke, R., Howard. (2012): Analysis of antioxidant rich fitochemicals. WileyBlackwell, Oxford.
- Yao, L., Jiang, Y., Singanusong, R., D'Arcy, B., Datta, N., Caffin, N., Raymont, K. (2004): Flavonoids in Australian *Melaleuca*, *Guioa*, *Lophostemon*, *Banksia* and *Helianthus* honeys and their potential for floral authentication. *Food Research Inter.* 37, 166-174.
- Youngsu, B., Young, J. K., Moo-Yeol, B., Dae-Ok, K., Hyungjae, L. (2015): Total Phenolic Contents and Antioxidant Activities of Korean Domestic Honey from Different Floral Sources. *Food Sci. Biotechnol.* 24 (4), 1453-1457.

POLYPHENOLS AND FLAVONOIDS IN HONEY

Harun Kurtagić

Federal Institute of Agriculture, Butmirska cesta 40, 71000 Sarajevo, Bosnia and Herzegovina

Review paper

Summary

The plant produces all biologically active ingredients of the food. Secondary metabolites of plants that are responsible for the beneficial effects in plants and other organisms but it can produce only plants. Therapeutic properties of plants is mainly based on the activity of polyphenol, of which special place occupy the flavonoids. Honeybees (*Apis mellifera*) collecting nectar, pollen and honeydew brings in the hive polyphenols that are widely distributed in the plant world. Although the content of polyphenols in honey are relatively small, but they are very meritorious for its medicinal qualities. Bee embeds them in honey in the form of what they plant produced, in free form or the form of glycosides. Their number, and the amount of which can be found in honey varies in relation to the whole range of factors such as the quality of bee season, season of collecting honey, geographic area, etc. Science has found that plants produce several thousand different polyphenols and their common characteristics are preventing the emergence of a disease while in plants that in mammals and human. Their basic action is based on preventing the emergence of highly reactive free radicals. Their chemical structure is based on the phenylpropanoic structure ($C_6-C_3-C_6$) and their biological activity on the number, position and type of the substituents. Most of the results of the research were made on the content of total polyphenols in honey and the contents of only a small number of flavonoids like flavonols quercetin and kamferol or flavonon naringenin. Some flavonoids are marked as markers of a certain varieties of honey. The largest number of studies of the content of flavonoids was made in the aromatic and medicinal plants, fruits, vegetables and teas. Due to the exceptional importance of these compounds for the live it should be expected that their scientific research to further intensify. The honey as a special gift of nature has always been named as a food and medicine, however, his healing powers is not fully explored, it is therefore to be expected that there will be scientific research qualitative and the quantitative content of flavonoids in honey and other bee products will continue.

Keywords: flavonoids, polyphenols, antioxidants, plants, honey